INTRA–EXTRAZELLULÄRE VERTEILUNG VON LITHIUM. IN VITRO–STUDIE AN ERYTHROZYTEN DES MENSCHEN

Johann Schicho

1979

Aus der Psychiatrischen Klinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. H. Hippius

INTRA-EXTRAZELLULÄRE VERTEILUNG VON LITHIUM. IN VITRO-STUDIE AN ERYTHROZYTEN DES MENSCHEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Johann Schicho
aus Cham

1979

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. N. Matussek
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. H. Hippius
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	18. 12. 1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

1. Einleitung
1.1. Lithium als Pharmakon
1.2. Problemstellung der Arbeit
1.3. Ziel der Arbeit

2. Methodik
2.1. Gewinnung und Aufbereitung der Erythrozyten
2.2. Inkubationssystem für Lithium-Aufnahme
2.3. Inkubationssystem für Lithium-Abgabe
2.4. Elektrolytmessungen
2.5. Messung von Hämatokrit, ATP und Hämoglobin

3. Ergebnisse
3.1. Lithium-Aufnahme
3.1.1. Lithium-Aufnahme an Erythrozyten Lithium-behandelter Patienten und an Erythrozyten von Kontrollpersonen
3.1.2. Einfluß von extrazellulärem Lithium auf die Lithium-Aufnahme
3.1.3. Extrazelluläres Lithium und Lithium-Aufnahme unter dem Einfluß von Stoffwechselhemmstoffen (Natriumfluorid und Monojodacetat)
3.1.4. Einfluß von extrazellulärem Calcium und Magnesium auf die Lithium-Aufnahme
3.1.5. Einfluß von extrazellulärem Kalium auf die Lithium-Aufnahme
3.1.6. Einfluß von extrazellulärem Natrium auf die Lithium-Aufnahme

3.2. Lithium-Abgabe

3.2.1. Lithium-Abgabe in Lithium-freies Inkubationsmedium bei Hämatokrit 45 %

3.2.2. Lithium-Abgabe in Lithium-freies Inkubationsmedium bei Hämatokrit 45 % in Anwesenheit von Natriumfluorid und Monojodacetat

3.2.3. Lithium-Abgabe in Lithium-freies Inkubationsmedium bei Hämatokrit 1o %

3.2.4. Lithium-Abgabe in Lithium-haltiges Inkubationsmedium bei Hämatokrit 1o %

3.2.5. Lithium-Abgabe in Lithium-haltige Inkubationsmedien variierender Natrium- und Kalium-Konzentrationen

4. Diskussion

5. Zusammenfassung

6. Literatur

1. EINLEITUNG

1.1. Lithium als Pharmakon

Das Element Lithium wurde zu Beginn des letzten Jahrhunderts entdeckt. Lithium liegt meist als einwertiges Kation vor und steht im Periodensystem in der Reihe der Alkalimetalle. Bezüglich seiner chemischen und physikalischen Eigenschaften ist Lithium eng mit Natrium verwandt. Es weist jedoch auch starke Ähnlichkeiten mit den zweiwertigen Kationen aus der Reihe der Erdalkalimetalle, insbesondere Kalzium und Magnesium auf (William R.J.P., 1973).

Lithium wurde früh nach seiner Entdeckung bei einer Vielzahl medizinischer Indikationen eingesetzt: Man verwendete zunächst lithiumhaltige Mineralwasser zur Behandlung von Gicht, Harnsäuresteinen und rheumatischen Erkrankungen (Garrod, 1859). Später wurde Lithiumchlorid als Kochsalzersatz bei Patienten verordnet, die zur Behandlung von Herzerkrankungen und Bluthochdruck Natriumchlorid-arme Ernährung benötigten. Wegen der unkontrollierten Einnahme von Lithium traten hierbei Intoxikationen und auch einige Todesfälle auf (Corcoran, 1959). Die Verwendung von Lithium bei Diabetes mellitus, Epilepsie, Chorea Huntigton und einer Reihe anderer Indikationen hat sich nicht durchgesetzt (Schou M., 1974).

Große praktische Bedeutung gewonnen hat der Einsatz von Lithium als Psychopharmakon:

1949 berichtete Cade erstmals von der erfolgreichen Behandlung manischer Erregungszustände mit Lithiumsalzen (Cade, 1949). Mehrere Doppelblindstudien anderer Autoren im Laufe der folgenden Jahre bestätigten die Befunde Cades (Schou, 1974 und Peet, 1975). Zusätzlich stellte man fest, daß die Fortsetzung der Lithiumtherapie das Wiederauftreten neuer Krankheitsphasen unterdrücken bzw. deren Intensität abschwächen kann (Schou, 1974).

So wurde die prophylaktische Anwendung der Lithiumsalze bei rezidivierenden endogenen affektiven Psychosen, und zwar bei den monopolaren wie auch bei den bipolaren Verlaufsformen, zur wichtigsten Indikation neben dem therapeutischen Einsatz bei der Manie. Die vorbeugende Wirkung bei rezidivierenden schizoaffektiven Psychosen wird als weniger stark ausgeprägt beschrieben (Berner et al., 1976).

1.2. Problemstellung der Arbeit

Mit der zunehmenden Verwendung von Lithiumsalzen in der klinischen Psychiatrie richtete sich auch die Aufmerksamkeit der biologisch ausgerichteten psychiatrischen Forschung vermehrt auf die Untersuchung der Biochemie und Pharmakologie dieses Medikaments.

Übereinstimmend wurde dabei angenommen, daß der Wirkort von Lithium im Zentralnervensystem liegt: Lithium beeinflusse dort die Verteilung anderer monovalenter und bivalenter Kationen an der Zellmembran (Mendels u. Frazer, 1972, 73). Zur Untersuchung der pharmakokinetischen bzw. biochemischen Mechanismen bietet sich die Zellmembran der naturgemäß als Einzelzelle vorliegenden Erythrozyten an. Nach den Ergebnissen einer tierexperimentellen Untersuchung von Mendels und Frazer (1973) wird die Konzentration von Lithium im Gehirn durch die Lithium-Konzentration in den Erythrozyten besser wiedergespiegelt, als durch die Plasmakonzentration.

Bei Messungen der Lithium-Konzentrationen in den Erythrozyten und im Plasma von Lithium-behandelten Patienten zeigte sich eine beträchtliche Assymetrie der Lithium-Verteilung:

Die Lithium-Konzentration im Plasma erwies sich allgemein als beträchtlich höher als die Konzentration des Lithiums in den Erythrozyten (Elizur et. al, 1972; Lyttkens et al., 1973; Mendels et al., 1973; Greil et al., 1974). Dabei war das Verhältnis der Lithiumkonzentration in den Erythrozyten zu der im Plasma (Li_i^+/Li_e^+) bei den einzel-

nen Individuen weitgehend konstant, interindividuell zeigten sich jedoch ausgeprägte Differenzen: Die intrazellulären Konzentrationen wichen erheblich voneinander ab, auch wenn äquivalente Dosen des Medikaments eingenommen und ähnliche Plasmakonzentrationen erzielt wurden (Lyttkens et al., 1973; Mendels et al., 1973). Bei den Patienten mit hohem intraerythrozytärem Lithium-Spiegel soll die Gabe von Lithiumsalzen therapeutisch wirksamer sein als bei Patienten mit niedriger intraerythrozytärer Lithiumkonzentration (Mendels und Frazer, 1973). Außerdem liegen bei der bipolaren Verlaufsform der affektiven Psychosen mit manischen und depressiven Phasen angeblich höhere Quotienten Li_i^+/Li_e^+ vor als bei der unipolaren Verlaufsform (Mendels und Frazer, 1973). Weiter wird das Auftreten der bekannten Nebenwirkungen wie feinschlägiger Fingertremor, Polyurie und Polydipsie, Gewichtszunahme und euthyreote Struma in Zusammenhang mit gesteigerter intrazellulärer Lithiumanreicherung gebracht (Elizur, 1972 ; Mendels und Frazer, 1973). Diese Beobachtungen und insbesondere Angaben über veränderte Natrium-Permeabilität an der Erythrozytenmembran bei Patienten mit affektiven Psychosen (Mendels u. Frazer, 1974; Hokim-Naeverson, 1974) lassen einen Zusammenhang zwischen Veränderungen von Membranprozessen und dem Auftreten affektiver Erkrankungen vermuten.

1.3. Ziel der Arbeit

Allen den zitierten Arbeiten ist gemeinsam, daß der intra- extrazelluläre Lithiumquotient als Parameter in Beziehung gebracht wird mit bestimmten klinischen Erfahrungen über den Krankheits- und Therapieverlauf. Ober die Ursachen, die für die Lithiumverteilung zwischen Erythrozyten und Plasma verantwortlich sind, war bei Beginn der Arbeit wenig bekannt. Ziel der vorliegenden Arbeit war es deshalb, Faktoren, die die assymmetrische Verteilung des Lithiums zwischen Intra- und Extrazellulärraum verursachen, näher zu charakterisieren.

Insbesondere sollte untersucht werden, ob die im Plasma vorhandenen Kationen Natrium, Kalium, Calzium und Magnesium die Verteilung von Lithium über der Erythrozytenmembran beeinflussen. Weiter wurde mit Hilfe der Glykolysehemmstoffe Natriumfluorid und Monojodacetat geprüft, ob der Lithium-Membran-Transport stoffwechselabhängig, d.h. an die Anwesenheit von ATP gebunden ist.

Mit der Beantwortung dieser Fragen könnte zu der derzeit geführten Diskussion über einen möglichen Zusammenhang zwischen Veränderungen von Membranprozessen und der Ätiologie oder Pathogenese affektiver Erkrankungen ein Beitrag geleistet werden.

Deshalb wurde der Transport von Lithium in vitro an Erythrozytenmembranen psychiatrisch gesunder Versuchspersonen sowie affektiv Erkrankter untersucht.

2. METHODIK

2.1. Gewinnung und Aufbereitung der Erythrozyten

Die für die Untersuchungen benötigen Erythrozyten wurden hauptsächlich aus dem Blut psychiatrisch gesunder Spender gewonnen. Zum Teil wurde auch Blut von Patienten der Psychiatrischen Klinik der Universität München verwendet, die unter Lithium-Therapie standen.

Das Blut wurde aus Armvenen entnommen und sogleich durch Zugabe von 1oo U Heparin/1 ml Blut ungerinnbar gemacht.

Durch 15-minütiges Zentrifugieren bei 3ooo g wurden die korpuskulären Blutbestandteile abgetrennt, der Plasmaüberstand wurde zusammen mit der auf der Erythrozytensäule liegenden weißen Leukozytenschicht mittels einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt. Die Erythrozyten wurden nunmehr zweimal in das fünffache Volumen einer aus 13o mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM $CaCl_2$, 1 mM $MgCl_2$, 15 mM Glucose und 2o mM Trispuffer bestehenden isotonen Salzlösung bei Zimmertemperatur resuspendiert und durch vorsichtige Rotationsbewegungen 1 Minute lang gewaschen. Dadurch wurden die zwischen den Erythrozyten verbliebenen Plasmareste ("trapped plasma") weitgehend entfernt. Die Erythrozyten standen jetzt für die Inkubation in speziellen Medien zur Verfügung.

2.2. Inkubationssystem für die Lithium-Aufnahme

Das für die Li^+-Aufnahmeuntersuchungen verwendete Inkubationsmedium enthielt 15 mM Glucose und 2o mM Tris sowie $CaCl_2$, $Mg\ Cl_2$, NaCl, KCL und Li^+-Cl in Konzentrationen, die jeweils bei der Beschreibung der entsprechenden Versuchsergebnisse, bzw. deren graphischen Darstellungen angegeben sind.

Die Isotonie des Mediums wurde durch Zugabe von Cholinchlorid hergestellt. Mittels o,1 N Salzsäure wurde der pH-Wert auf 7,4 eingestellt. Während des Versuchsablaufs wurde der Wert in stündlichen Abständen geprüft und bei etwaigen Abweichungen durch Zugabe von o,5 N Natriumlauge auf den Ausgangswert korrigiert. Ein Absinken des pH-Wertes unter 7,2 wurde damit in allen Fällen verhindert.

Die bereits 2mal gewaschenen Erythrozyten wurden jetzt in der als späteres Inkubationsmedium vorgesehenen Lösung ein drittes Mal und zwar wiederum im fünffachen Volumen gewaschen. Die Inkubationsmedien wurden sodann auf 37 ^{o} C vorgewärmt, und durch Hinzufügen eines, dem Hämatokrit von 1o bzw. 45 % entsprechenden Erythrozytenvolumens wurde die Lithium-Aufnahme gestartet.

Diese Ansätze wurden während der gesamten Versuchsdauer in einem 37 ^{o} C warmen Wasserbad belassen und ständig durch langsames Rundschütteln (1oo Umdrehungen/Min.) bewegt.

Zu den aus den graphischen Ergebnisdarstellungen ersichtlichen Zeiten wurden aus den inkubierten Erythrozytensuspensionen Proben von 1,5 ml entnommen und wie unter Nr. 2.4. beschrieben, weiterverarbeitet.

2.3. Inkubationssystem für Lithium-Abgabe

Untersuchungen über Lithium-Transport aus Erythrozyten in ein Inkubationsmedium erforderten ein vorheriges Beladen der Zellen mit Lithium: 2mal gewaschene Erythrozyten wurden in eine Lösung aus 5o mM Li^+Cl, 8o mM NaCl, 5 mM KCL, 1 mM Ca Cl_2, 1 mM Mg Cl_2, 2o mM Tris und 15 mM Glucose eingebracht (pH-Wert 7,4; Temperatur 37 ^{o} C; Hämatokrit 2o %). Nach 6o bis 9o-minütiger Inkubationszeit wurden die mit Lithium beladenen Erythrozyten 2mal im fünffachen Volumen des für die folgende Lithium-Abgabe-Untersuchung verwendeten Mediums gewaschen. Die Lithium-beladenen Zellen wurden sodann bei pH 7,4, 37 ^{o} C und 45 bzw. 1o % Hämatokrit in Standard- oder in der Zusammensetzung davon abweichenden Medien resuspendiert. Das Standardmedium enthielt 13o mM NaCl, 5 mM KCL, 1 mM Ca Cl_2, 1 mM Mg Cl_2, 15 mM Glucose und 2o mM Tris (davon abweichende Medien, siehe bei Ergebnissen!). Nach den in den Tabellen und Abbildungen ersichtlichen Zeitabständen wurden Proben von 1,5 ml entnommen.

2.4. Elektrolytmessungen

Die mittels Pasteurpipetten entnommenen 1,5 ml Proben wurden sofort in der Tischzentrifuge Eppendorf 3oo2 zwei Minuten lang zentrifugiert. Vom Oberstand wurden 5o µl abpipettiert und mit 1 ml 6%iger Butanollösung verdünnt. Der Rest des Oberstandes wurde abgesaugt und verworfen. Die Erythrozyten wurden anschließend einmal im zehnfachen Volumen einer kalium- und natriumfreien Lösung folgender Zusammensetzung gewaschen: 135 mL Cholinchlorid, 1 mM $CaCl_2$, 1 mM $MgCl_2$, 2o mM Trispuffer, 15 mM Glucose, pH 7,4.

Um Stoffwechsel- und Membranprozesse während des Waschvorganges zu unterbinden bzw. abzuschwächen, wurde die Waschflüssigkeit eisgekühlt verwendet. Nach erneuter 2-minütiger Zentrifugation in der Eppendorf-Tischzentrifuge wurde die Waschflüssigkeit vollständig abgesaugt. Mittels einer "Blaubrand" - Mikroglaspipette wurden 5o µl Erythrozytensediment entnommen, 1 ml 6%iges Butanol zugegeben und durch 2o Sekunden langes, kräftiges Schütteln hämolysiert. In dieser Lösung, die entweder 5o µl des Inkubationsmediums oder 5c µl der inkubierten Erythrozyten enthielt, wurden die Konzentrationen von Lithium gemessen.

Für die Messungen von Na^+ und K^+ wurden weitere Verdünnungen mit 6%igem Butanol angefertigt. Die Konzentrationen der genannten Elektrolyte wurden mit dem Atomabsorptionsphotometer "Perkin Elmer 4oo" bestimmt.

Im Ergebnisteil sind die gemessenen Elektrolytkonzentrationen in mM bezogen auf 1 l Erythrozytensediment oder 1 l Inkubationsmedium angegeben.

2.5. Messung von Hämatokrit, ATP und Hämoglobin

Am Anfang und Ende jedes Versuchs wurde der Hämatokrit der verwendeten Erythrozytensuspension gemessen: Der Wert wurde durch 5-minütige Zentrifugation in einer HC 1o2 Microfuge "Heraeus Christ" ermittelt.

Die ATP-Konzentration in den Erythrozyten wurde nach Perchlorsäurefüllung unter Verwendung der "Biochemica Test Combination" von Boeringer durch enzymatische Reaktion bestimmt.

Die Messung des Hämoglobingehaltes erfolgte mit der Hämoglobincyanid-Methode anhand der Test-Combination der Fa. Boeringer.

3. ERGEBNISSE

3.1. Lithium-Aufnahme

3.1.1. Lithium-Aufnahme an Erythrozyten Lithium-behandelter Patienten und an Erythrozyten von Kontrollpersonen

Die Aufnahme von Lithium in die Erythrozyten wurde zunächst in Suspensionsmedien untersucht, die annähernd physiologische Konzentrationen der im Plasma vorhandenen Kationen aufwiesen. Die Lithium-Konzentration im Außenmedium betrug zu Versuchsbeginn ca. 2,5 mM, sank aber während des Versuches, da bei einem Hämatokrit von 45 % inkubiert wurde, auf ca. 2,1 mM ab. In diesem Experiment wurde die Lithium-Aufnahme an Erythrozyten von 5 psychiatrisch gesunden Spendern untersucht. Zum Vergleich wurden auch Erythrozyten von 5 Patienten verwendet, die wegen Erkrankungen aus dem manisch-depressiven Formenkreis in der Universitäts-Nervenklinik stationär behandelt wurden. Diese Patienten wurden mit einer Ausnahme später mit Lithium therapiert, so daß auch der in vivo errichtete Quotient Li_i^+/Li_e^+ ermittelt werden konnte.

Während der Inkubationszeit stiegen die intrazellulären Lithium-Konzentrationen langsam an (Tab. 1).

Tab. 1: Lithium-Konzentration in Erythrozyten psychiatrisch Gesunder im Vergleich zu Konzentrationen in Patientenerythrozyten. Inkubation in 2,5 mM Li^+-haltigen Medien (37° C; pH 7,4; Hk 45 %)

Psychiatrisch gesunde Versuchspersonen

	1	2	3	4	5	$\bar{x}$	SD
Li_i^+(mM/1) nach 2 Std.	o,17	o,17	o,14	o,17	o,15	o,16±	o,o14
4 "	o,22	o,24	o,26	o,27	o,28	o,25±	o,o24
6 "	o,26	o,29	o,33	o,34	o,33	o,31±	o,o39
24 "	o,45	o,48	o,56	o,53	o,5o	o,5o±	o,o4
Li_e^+(mM/1) nach O Std.	2,5	2,6	2,4	2,8	2,5	2,56±	o,15
24 "	2,15	2,2	2,o	2,5	2,15	2,2 ±	o,18
Li_i^+/Li_e^+ nach 24 "	o,21	o,22	o,28	o,21	o,23	o,23±	o,o29

Patienten

	1	2	3	4	5	$\bar{x}$	SD
Li_i^+(mM/1) nach 2 Std.	o,23	o,26	o,18	o,25	o,24	o,23±	o,o31
4 "	o,27	o,29	o,25	o,34	o,28	o,29±	o,o34
6 "	o,34	o,34	o,32	o,4	o,33	o,35±	o,o3
24 "	o,53	o,52	o,52	o,6o	o,48	o,53±	o,o4
Li_e^+(mM/1) nach O Std.	2,5	2,5	2,45	2,8	2,5	2,55±	o,14
24 "	2,15	2,1	2,o	2,45	2,1o	2,16±	o,17
Li_i^+/Li_e^+ nach 24 "	o,25	o,25	o,26	o,24	o,23	o,25±	o,o1
Li_i^+/Li_e^+ in vivo	o,42	o,55	o,5	/	o,36	o,46±	o,o8

Am Ende der Inkubationszeit wurden Quotienten Li_i^+/Li_e^+ gemessen, die zwischen o,21 und o,28 lagen. Dabei fällt auf, daß die Mittelwerte der in Patientenerythrozyten gemessenen Lithium-Konzentrationen zu allen Meßzeiten höher lagen als die entsprechenden Werte der Kontrollzellen, obwohl die extrazelluläre Lithium-Konzentration in beiden Fällen annähernd identisch war. Auch nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden lag der Quotient Li_i^+/Li_e^+ bei den Kontrollzellen niedriger.

Die bei den Patienten unter der späteren Lithium-Therapie ermittelten Quotienten Li_i^+/Li_e^+ überschritten die in vitro - Quotienten fast um den Faktor 2.

3.1.2. Einfluß von extrazellulärem Lithium auf die Lithium-Aufnahme

In weiteren Experimenten wurde die Abhängigkeit der Lithium-Aufnahme von der extrazellulären Lithium-Konzentration untersucht. Erythrozyten wurden dazu 24 Stunden in Medien inkubiert, die Lithium in Konzentrationen zwischen o,5 und 1o mM enthielten, ansonsten soweit wie möglich mit den physiologischen Verhältnissen übereinstimmten. Die Konzentration von NaCl wurde zur Erhaltung der Isotonie entsprechend der Konzentration von Lithiumchlorid reduziert.

Je höher die extrazellulären Lithium-Konzentrationen lagen, desto höher waren auch die in den Erythrozyten gemessenen Konzentrationen. Diese blieben jedoch in allen Fällen, selbst nach einer Inkubationsdauer von 24 Stunden, wesentlich niedriger als die extrazellulären Lithium-Konzentrationen. Kontrollversuche, in denen die Inkubationsdauer um weitere 24 Stunden auf 48 Stunden verlängert wurde, ergaben eine nur noch unwesentliche Veränderung der intrazellulären Lithium-Konzentrationen im Vergleich zu den nach 24 Stunden gemessenen Werten.

In Abb. 1 (untere Kurve) sind die nach 24 Stunden gemessenen intrazellulären Lithium-Konzentrationen in Abhängigkeit von der extrazellulären Lithium-Konzentration aufgetragen. Jeweils über den einzelnen Kurvenpunkten sind die nach 24 Stunden ermittelten Quotienten Li_i^+/Li_e^+ angeführt.

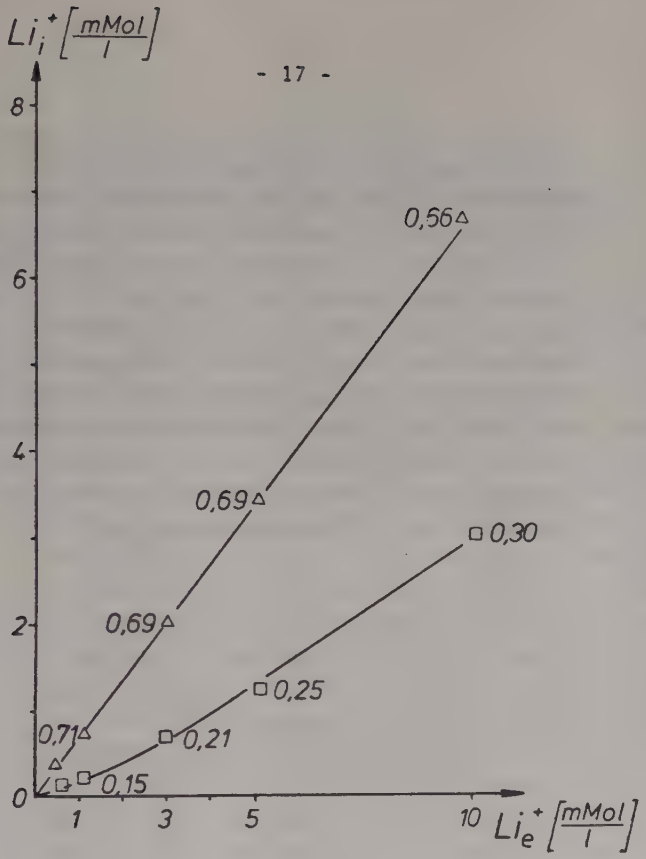

Abb. 1: Intrazelluläre Lithium-Konzentrationen nach 24-stündiger Inkubation in Medien steigender Li_e^+ - Konzentrationen ($37\,^{o}C$; pH 7,4; Hk 1o %)

□ Li_i^+ in Inkubationsmedien ohne Hemmstoffe

△ Li_i^+ in Gegenwart von 15 mM NaF und 2 mM MJA

Die Zahlenwerte über den Symbolen bezeichnen den nach 24-stündiger Inkubation gemessenen Quotienten Li_i^+/Li_e^+

Mittelwerte aus n = 4

Diese Quotienten liegen zwischen o,16, gemessen bei der niedrigsten Lithium-Konzentration im Außenmedium, und o,3o bei der höchsten. Bemerkenswert ist also eine deutliche Abhängigkeit dieses Quotienten von der extrazellulären Lithium-Konzentration. Erythrozyten sind also nicht in der Lage, ein konstantes Verhältnis Li_i^+/Li_e^+ unabhängig von der Lithium-Konzentration im Außenmedium beizubehalten. Dieses Phänomen tritt jedoch bei höheren, nicht mehr im therapeutischen Bereich liegenden Lithium-Konzentrationen auf, dürfte somit für die Erklärung der interindividuellen Unterschiede des Quotienten Li_i^+/Li_e^+ ohne Bedeutung sein.

3.1.3. Extrazelluläres Lithium und Lithium-Aufnahme unter dem Einfluß von Stoffwechselhemmstoffen

Parallel zu den oben beschriebenen Versuchen wurden Erythrozyten der gleichen Spender in Medien inkubiert, denen Natriumfluorid und Monojodacetat in Konzentrationen von 15 bzw. 2 mM zugegeben wurden. Glucose wurde weggelassen, die Isotonie des Mediums mit NaCl korrigiert. Durch Zugabe von Natriumfluorid und Monojodacetat, beides Hemmstoffe der erythrozytären Glykolyseenzyme GAPDH bzw. PGM, konnte bereits nach einer Inkubationszeit von 1 1/2 Stunden die ATP-Konzentration in den Erythrozyten auf ein Drittel des Ausgangswertes reduziert werden. Unter diesen experimentellen Bedingungen überschritten die nach 24 Stunden gemessenen intrazellulären Lithium-Konzentrationen die in den Kontrollzellen gemessenen um den Faktor 2 bis 4 (Abb. 1, obere Kurve). Der Lithium-Verteilungsquotient Li_i^+/Li_e^+ lag bei allen extrazellulären Lithium-Konzentrationen annähernd gleich hoch bei o,7, was aus dem linearen Kurvenverlauf zu ersehen ist. Da der Anteil des Wassers am Gesamtvolumen der Erythrozyten ca. 65 % beträgt, entspricht dies einem Quotienten Li_i^+/Li_e^+ bezogen auf Zellwasser von etwa 1,o, d.h. also, daß die Lithium-Konzentrationen im Medium und im Zellwasser annähernd identisch sind.

Die Anwesenheit von Natriumfluorid und Monojodacetat bewirkt also eine fast annähernd passive Verteilung von Lithium zwischen Medium und Erythrozyten.

3.1.4. Einfluß von extrazellulärem Calcium und Magnesium auf die Lithium-Aufnahme

Befunde anderer Autoren zeigen, daß Lithium die Aktivität mehrerer Ca^{++} - und Mg^{++} -abhängiger Transportsysteme beeinflussen kann. So ergab sich die Fragestellung, ob auch die Aufnahme von Lithium in die Erythrozyten mit den Kationen Ca^{++} und Mg^{++} interferiert. Erythrozyten von vier psychiatrisch gesunden Spendern wurden dazu in Medien inkubiert, die entweder 1 mM Ca^{++} und schrittweise von o auf 25 mM ansteigende Mg^{++}-Konzentrationen enthielten, oder 1 mM Mg^{++} und von o auf 25 mM ansteigende Ca^{++} - Konzentrationen.

In einem Fall war weder Ca^{++} noch Mg^{++} anwesend. Medien, die Ca^{++} -frei waren, wurde zusätzlich 1 mM EDTA zugegeben. Die Lithium-Konzentration im Medium betrug bei diesen Versuchen 3 mM. Die Ergebnisse dieser Versuche (Tab. 2) zeigen, daß weder durch Ca^{++} noch durch Mg^{++} eine Veränderung der Lithium-Aufnahme bewirkt werden kann. Die nach 24 Stunden in den Erythrozyten gemessenen Lithium-Konzentrationen (Mittelwerte aus 4 Versuchen) lagen zwischen o,48 und o,53 mM bei steigenden Ca^{++} - Konzentrationen, bzw. zwischen o,49 und o,53 mM bei steigenden Mg^{++} - Konzentrationen. Ein kompetitiver Effekt von Ca^{++} und/oder Mg^{++} auf die Lithium-Aufnahme konnte somit nicht nachgewiesen werden.

Tab. 2: Li^+-Konzentrationen in Erythrozyten psychiatrisch gesunder Spender.
Inkubation in 3,o mM/l Li^+-haltigen Medien

a) steigender Ca^{++}-Konzentration (Mg^{++} 1mM/l)
b) steigender Mg^{++}-Konzentration (Ca^{++} 1mM/l)
(37° C; pH 7,4; Hk 45 %)

Mittelwerte ± SD; n = 4

a) Konzentrat.f. Ca^{++} (mM/l Mg^{++})	0 0	0 1	1 1	5 1	10 1	25 1	
Li_i^+(mM/l) nach 6 Std.	o,28 o,o5	o,29 o,o3	o,3o o,o2	o,3 o,o4	o,27 o,o2	o,3o o,o2	$\bar{x}$ ±SD
Li_i^+(mM/l) nach 24 Std.	o,52 o,o39	o,49 o,o6	o,52 o,o35	o,48 o,o9	o,53 o,o3	o,51 o,o1	$\bar{x}$ ±SD

b) Konzentrat.f. Ca^{++} (mM/l) Mg^{++}	0 0	1 0	1 1	1 5	1 10	1 25	
Li_i^+(mM/l) nach 6 Std.	o,28 o,o5	o,27 o,15	o,3o o,o2	o,3o o,18	o,26 o,o4	o,29 o,19	$\bar{x}$ ±SD
Li_i^+(mM/l) nach 24 Std.	o,52 o,o39	o,53 o,o23	o,52 o,o35	o,49 o,o22	o,49 o,o26	o,53 o,o6	$\bar{x}$ ±SD

3.1.5. Einfluß von extrazellulärem Kalium auf die Lithium-Aufnahme

In den folgenden Experimenten wurde untersucht, ob durch eine Erniedrigung oder Erhöhung der normalen Plasma-Kalium-Konzentrationen die Aufnahme von Lithium in die Erythrozyten verändert werden kann. Dazu wurden Erythrozyten in Medien inkubiert, in denen die Kalium-Konzentration, ausgehend von $K^+ <$ o,5 mM, schrittweise auf 135 mM erhöht wurde. Die Isotonie des Inkubationsmediums wurde, wenn erforderlich, durch Veränderung von NaCl hergestellt. Die externe Lithium-Konzentration betrug 4 mM. In Abb. 2 sind die Ergebnisse dargestellt, die bei einer Erhöhung der Kalium-Konzentration bis auf 1o mM erhalten wurden: Die Höhe der Lithium-Aufnahme ist deutlich von der extrazellulären K^+ - Konzentration abhängig. Die höchste Lithium-Aufnahme wurde erzielt, wenn die Kalium-Konzentration am niedrigsten, d.h. < o,5 mM war. Bei schrittweiser Erhöhung auf 1o mM wurde eine Erniedrigung der Lithium-Aufnahme um 45 % gemessen.

In Abb. 3 sind die intrazellulären Lithium-Konzentrationen nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden dargestellt. Berücksichtigt sind dabei die 24 Stunden-Werte der eben beschriebenen Versuche und zusätzlich die Werte, die bei Kalium-Konzentrationen von 25, 5o und 135 mM erhalten wurden.

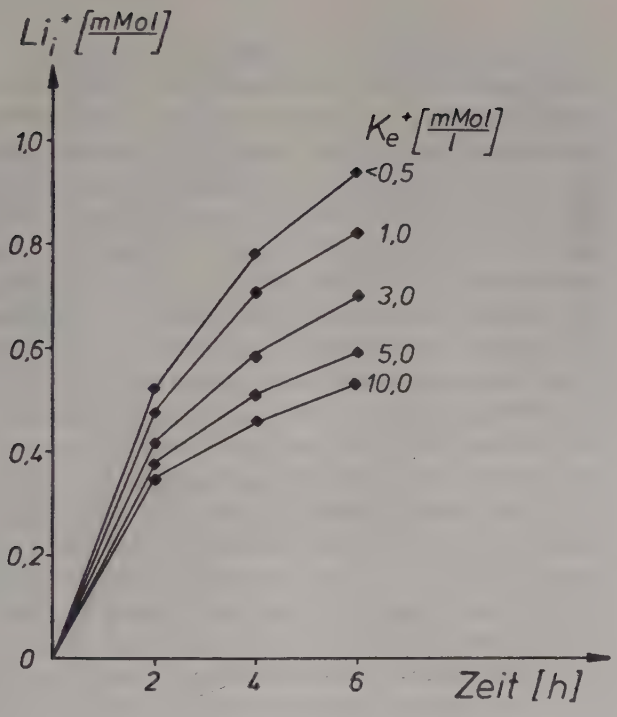

Abb. 2: Li^+ -Aufnahme in Erythrozyten. Inkubation in Li^+ -haltigen Medien steigender extrazellulärer Kalium-Konzentration.
(37 °C; pH 7,4; Hk 1o %; LiCl 4 mM/l;
KCl von < o,5 bis 1o mM/l, Isotonie
durch NaCl)

Mittelwert ± SD; n = 5

Deutlich wird auch hier wiederum die starke Erniedrigung der Lithium-Aufnahme bei Erhöhung der extrazellulären Kalium-Konzentration. Die maximale Hemmung wird bereits bei einer Kalium-Konzentration von 25 mM erzielt. Der durch Kalium hemmbare Anteil der Lithium-Aufnahme beträgt o,77 mM, was einem prozentualen Anteil von 47 % entspricht. Dies stimmt auch gut mit den in den ersten 6 Stunden erhaltenen Werten überein. Ein drastischer Anstieg der Lithium-Aufnahme, nämlich um 1oo %, wurde bei einer Erhöhung der Kalium-Konzentration von 5o auf 135 mM festgestellt. Gleichzeitig wurde aber dabei zur Aufrechterhaltung der Isotonie die Natrium-Konzentration von 85 mM auf 1 mM erniedrigt. Die Ergebnisse dieser Versuche zeigen, daß ein durch die Anwesenheit von Kalium hemmbarer Anteil der Lithium-Aufnahme existiert, der am deutlichsten im Bereich zwischen $<$ o,5 und 1o mM extrazellulärem Kalium zum Ausdruck kommt. Bei einer 25 mM übersteigenden Kalium-Konzentration konnte keine wesentliche zusätzliche Hemmung mehr festgestellt werden.

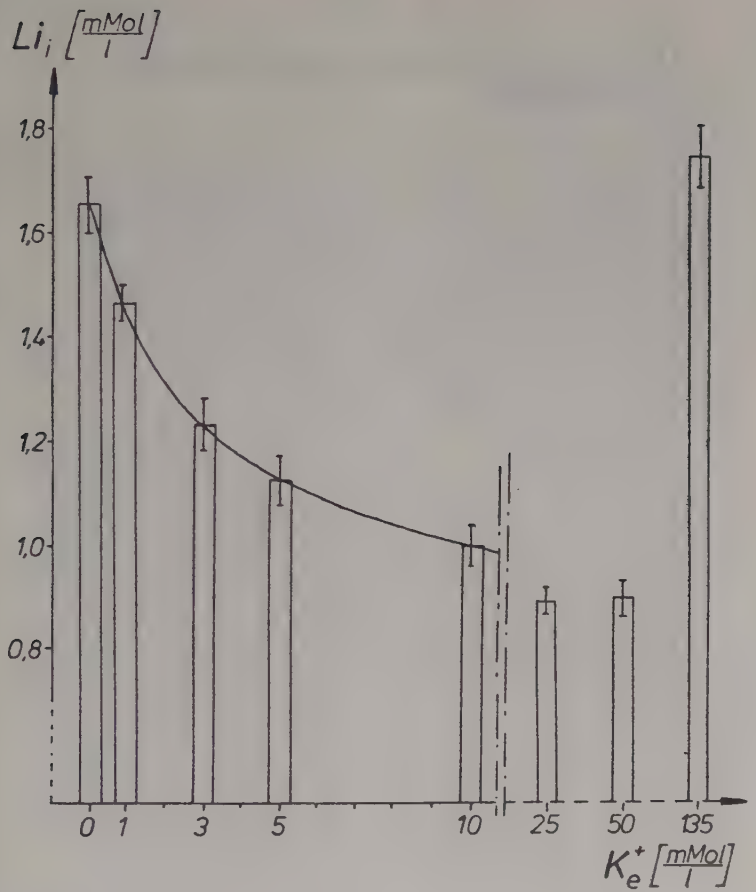

Abb. 3: Intrazelluläre Lithium-Konzentration nach 24-stündiger Inkubation in Li^+-haltigen Medien in Abhängigkeit von der extrazellulären Kalium-Konzentration
(37 °C; pH 7,4; Hk 1o %; LiCl 4 mM/l; KCL von < o,5 - 135 mM/l, Isotonie durch unterschiedliche NaCl-Konzentrationen)

Mittelwerte ± SD; n = 4

3.1.6. Einfluß von extrazellulärem Natrium auf die Lithium-Aufnahme

In den in Abb. 3 dargestellten Experimenten konnte ein deutlicher Anstieg der Lithium-Aufnahme festgestellt werden, wenn das extrazelluläre Natrium nahezu vollständig durch Kalium ersetzt wurde, d.h. $Na^+ < 1$ mM war. Die im folgenden beschriebenen Versuche sollten nun klären, ob dieser Anstieg durch die Abwesenheit von extrazellulärem Na^+ oder durch die hohe Kalium-Konzentration verursacht wird. Um diese Fragestellung zu untersuchen, wurden Erythrozyten in Medien inkubiert, deren Natrium-Konzentration schrittweise auf 13o mM erhöht wurde. Die Isotonie wurde durch KCl hergestellt. Die externe Lithium-Konzentration betrug wiederum 4 mM. In Abb. 4 sind die nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden gemessenen intrazellulären Lithium-Konzentrationen in Abhängigkeit von den extrazellulären Natrium- und Kalium-Konzentrationen dargestellt. Die in einem Na^+ -freien Medium ($Na_e^+ < 1$ mM) gemessene Lithium-Aufnahme von 1,71 $\pm$ o,o6 mM stimmt gut mit den in den vorherigen Versuchen erhaltenen Werten überein. Bei schrittweiser Erhöhung der Natrium-Konzentration auf 13o mM wurde die Lithium-Aufnahme um o,59 mM reduziert.

Die größte Steigerung der Lithium-Aufnahme (Abb. 4) wurde in Medien ermittelt, in denen sowohl Natrium als auch Kalium vollständig durch Cholinchlorid ersetzt worden waren. Hierbei wurde nach 24 Stunden eine mittlere intrazelluläre Lithium-Konzentration von 2,72 gemessen, was bei einer externen Lithium-Konzentration von 4 mM einem Quotienten Li_i^+/Li_e^+

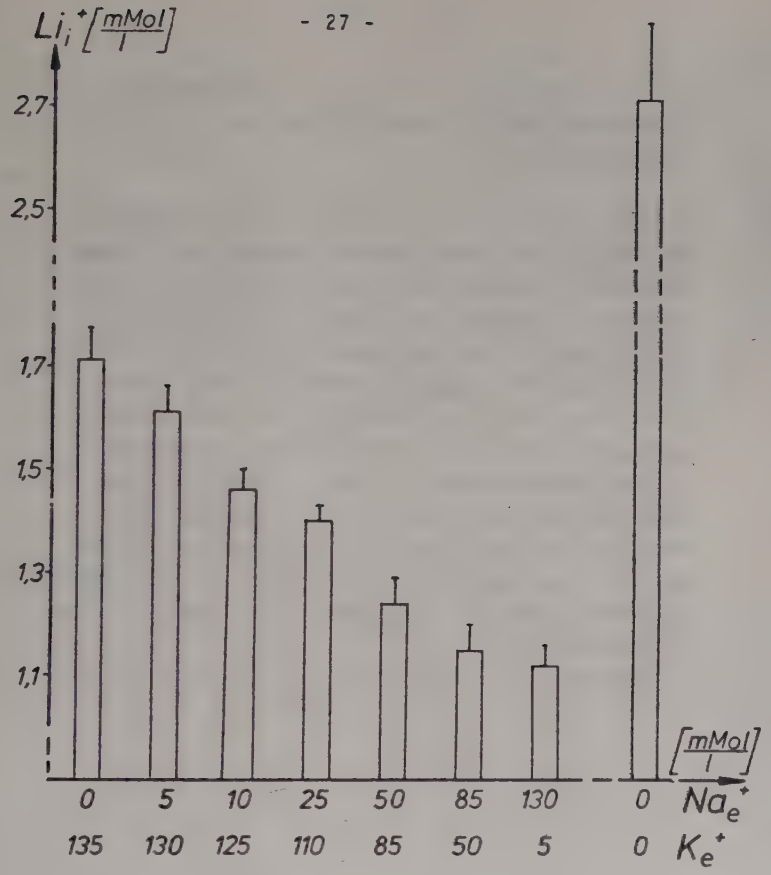

Abb. 4: Intrazelluläre Lithium-Konzentration nach 24-stündiger Inkubation in Li^+ -haltigen Medien in Abhängigkeit von den extrazellulären Natrium- und Kalium-Konzentrationen.

(37 °C; pH 7,4; Hk 1o %; LiCl 4 mM/l; NaCl o - 13o mM/l bei KCl 135 - 5 mM/l, Isotonie durch Cholinchlorid)

Mittelwerte ± SD; n = 5

von o,68 entspricht. Die Lithium-Konzentration im Zellwasser und im Suspensionsmedium war also annähernd gleich.

In Abb. 5 ist die nach einer Inkubationsdauer von 24 Stunden festgestellte Hemmung der Lithium-Aufnahme in Abhängigkeit von der extrazellulären Natrium-Konzentration dargestellt. Es ist die Differenz der Lithium-Aufnahme in Natrium-freien Medium und der Lithium-Aufnahme in Medien mit unterschiedlichen Natrium-Konzentrationen aufgetragen. Die mittlere Lithium-Aufnahme in Natrium-freien Medien betrug 1,71 mM/l (vergleiche auch Abb. 4). Der größte Anstieg der Hemmung liegt im Bereich zwischen o und 5o mM extrazellulärem Na^+. Ca. 8o % der maximal möglichen Hemmung der Lithium-Aufnahme wurde bei einer Natrium-Konzentration von 5o mM beobachtet.

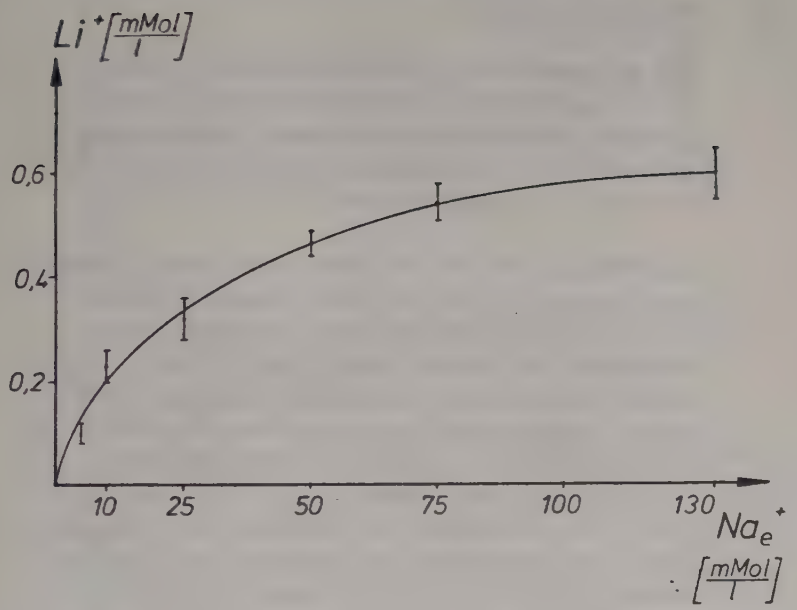

Abb. 5: Hemmung der Lithium-Aufnahme nach 24-stündiger Inkubation in Abhängigkeit von der extrazellulären Natrium-Konzentration. Es ist die Differenz der Lithium-Aufnahme bei Na_e < 1 mM und der Lithium-Aufnahme bei den unterschiedlichen Na_e - Konzentrationen aufgetragen.

(37 °C; pH 7,4; Hk 1o %; LiCl 4 mM/l; NaCl o - 13o mM/l, Isotonie durch KCl)

3.2. Lithium-Abgabe

3.2.1. Lithium-Abgabe in Li^+ -freies Inkubationsmedium bei Hk 45 %

Bei den Versuchen zur Lithium-Aufnahme (siehe Tab. 1 und Abb. 1) wurde während einer Inkubationszeit von 24 Stunden über der Erythrozytenmembran ein erheblicher elektrochemischer Gradient für Lithium aufrechterhalten.

Ausgehend von diesem Befund wurde nun untersucht, ob Erythrozyten, die mit Lithium beladen wurden, imstande sind, einen ähnlichen elektrochemischen Gradienten für Lithium in einem initial Li^+ -freien Medium zu errichten. Erythrozyten von 6 psychiatrisch gesunden Spendern wurden dazu während einer 15-stündigen Vorinkubation mit Lithium beladen (Li^+_e 3 mM) und anschließend bei einem Hk von 45 % in Li^+ -freien Medien, die weitgehend mit den physiologischen Verhältnissen übereinstimmten, resuspendiert. Die initialen Lithium-Konzentrationen in den Erythrozyten lagen zwischen o,37 und o,46 mM. In Abb. 6 ist der Verlauf der intrazellulären und der extrazellulären Lithium-Konzentration aufgetragen (Mittelwerte $\pm$ SD).

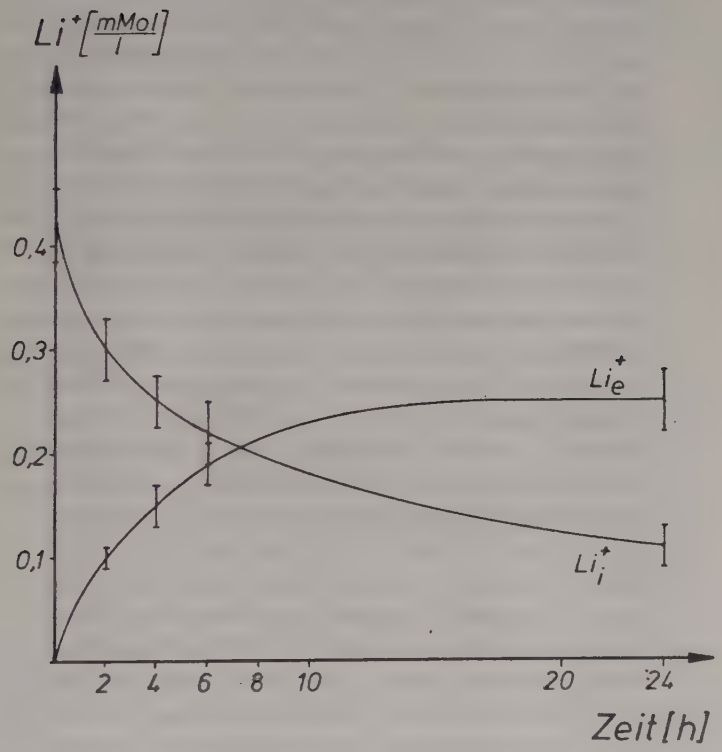

Abb. 6: Lithium-Abgabe aus Erythrozyten in Li^+ - freies Inkubationsmedium während 24 Stunden.
Li^+_i: Li^+ -Konzentration in den Erythrozyten (mM/l)
Li^+_e: Li^+ -Konzentration im Inkubationsmedium (mM/l)
(pH 7,4; 37 °C; Hk 45 %; NaCl 13o mM; KCl 5 mM; $CaCl_2$ 1 mM; $MgCl_2$ 1 mM; Glucose 15 mM; Trispuffer 2o mM)
Mittelwerte ± SD; n = 6

Mit initial erhöhter Geschwindigkeit gaben die Erythrozyten Lithium in das Li^+ -freie Außenmedium ab. Nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden war der intrazelluläre Lithium-Gehalt bereits um 4o % vermindert. Nach 6 Stunden waren die Lithium-Konzentrationen in den Erythrozyten und im Außenmedium etwa gleich. Gemäß dem Donnan-Verhältnis für frei penetrierende Ionen war damit, bezogen auf Lithium, ein elektrochemischer Gleichgewichtszustand zwischen dem intra- und dem extrazellulären Raum erreicht. Während der folgenden 18 Stunden transportierten die Erythrozyten jedoch weiterhin Lithium nach außen, wobei die Lithium-Konzentration im Suspensionsmedium entsprechend zunahm. Lithium wurde in diesem Inkubationszeitraum gegen einen elektrochemischen Gradienten über die Erythrozytenmembran transportiert.

Nach 24 Stunden wurde ein Quotient Li_i^+/Li_e^+ von o,44 $\pm$ o,o6 ($\bar{x}\pm$ SD) gemessen. Dieser Quotient lag somit höher als die bei den Lithium-Aufnahmeversuchen ermittelten Quotienten. Dennoch ist aber damit bewiesen, daß Erythrozyten in der Lage sind, während einer 24-stündigen Inkubation einen elektrochemischen Gradienten für Lithium zu errichten.

3.2.2. Lithium-Abgabe in Li^+ -freies Inkubationsmedium bei Hk 45 % in Anwesenheit von Natriumfluorid und Monojodacetat

Aufgrund der Befunde über die Errichtung eines elektrochemischen Gradienten für Lithium an der Erythrozytenmembran (Abb. 6) wurden die eben geschilderten Versuche auch in Anwesenheit der Stoffwechselblocker Natriumfluorid und Monojodacetat durchgeführt. Den Inkubationsmedien wurde keine Glucose zugesetzt. Lithium-vorbeladene Erythrozyten wurden in diesen Medien resuspendiert und 24 Stunden bei 17 Grad C inkubiert. Der Zeitverlauf der intra- und extrazellulären Lithium-Konzentrationen ist in Abb. 7 dargestellt: Lithium wurde unter diesen experimentellen Bedingungen wesentlich langsamer in das Außenmedium transportiert. Die intrazelluläre Lithium-Konzentration war nach einer Inkubationszeit von 4 Stunden erst um 25 % vermindert. Nach 24 Stunden waren intra- und extrazelluläre Lithium-Konzentrationen annähernd gleich, d.h., die Verteilung von Lithium entsprach dem elektrochemischen Gleichgewicht. Erythrozyten transportieren also in Gegenwart von Natriumfluorid und Monojodacetat Lithium mit wesentlich geringerer Geschwindigkeit in das Außenmedium und waren nicht in der Lage, innerhalb einer Inkubationszeit von 24 Stunden einen elektrochemischen Gradienten für Lithium zu errichten.

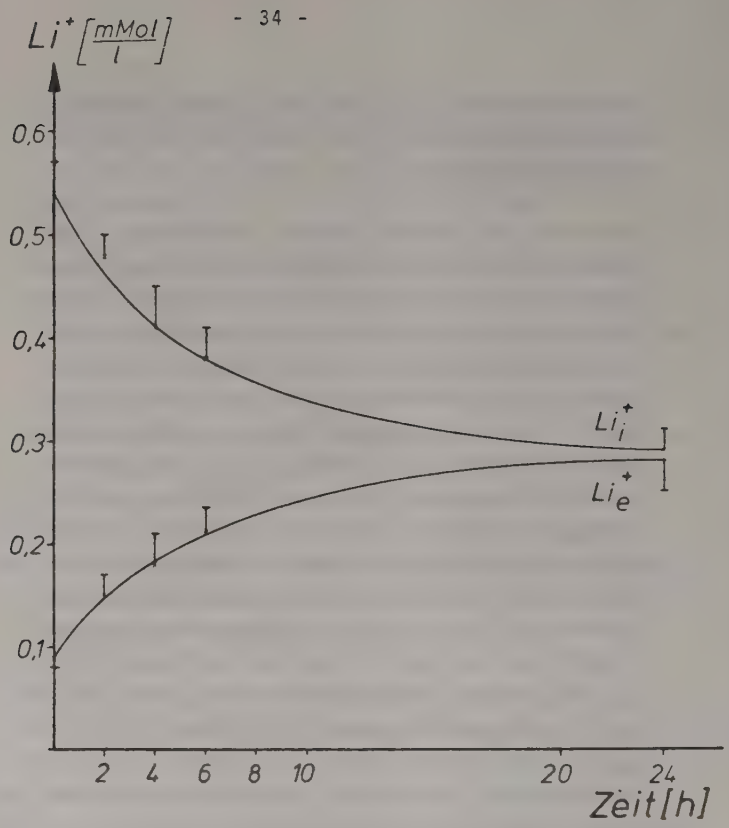

Abb. 7: Lithium-Abgabe aus Erythrozyten in Li^+ - freies Inkubationsmedium in Anwesenheit von NaF und MJA während 24 Stunden.

Li^+_i: Li^+-Konzentration in den Erythrozyten (mM/l)

Li^+_e: Li^+-Konzentration im Inkubationsmedium (mM/l)

(pH 7,4; 37 °C; Hk 45 %; NaCl 13o mM; KCl 5 mM; $CaCl_2$ 1 mM; $MgCl_2$ 1 mM; Trispuffer 2o mM; NaF 1o mM, MJA 1 mM)

Mittelwerte ± SD; n = 6

3.2.3. Lithium-Abgabe in Li^+ -freies Inkubationsmedium bei Hk 1o %: Vergleich der Lithium-Abgabe aus Erythrozyten einer Lithium-behandelten Patientin und einer Kontrollperson

In den nun folgenden Versuchen wurde die Lithium-Abgabe aus den Erythrozyten bei einem Hk von 1o % durchgeführt. Diese Versuchsanordnung ermöglichte trotz Abgabe von Lithium aus den Erythrozyten eine weitgehend unveränderte Lithium-Konzentration im Medium.

Abb. 8 und 9 zeigen den Lithium-Auswärtstransport von Erythrozyten einer manisch-depressiven Patientin verglichen mit dem Auswärtstransport an Erythrozyten eines gesunden Spenders. Bei der Patientin K. wurde aufgrund mehrmaliger klinischer Routinemessungen von Lithium ein intra-extrazelluläres Verhältnis Li_i^+/Li_e^+ von o,5 unter Lithium-Therapie ermittelt. Die Lithium-Therapie wurde 1 Woche vor Beginn dieser Versuche unterbrochen, so daß die Erythrozyten vor der Beladung mit Lithium weitgehend Li^+ -frei, d.h. $Li_i^+ < o,o5$ mM/l waren. Die Zellen wurden in Medien mit Lithium-Konzentrationen zwischen o,5 und 5o mM während einer 15-stündigen Inkubation mit Lithium vorbeladen.Die gewaschenen Erythrozyten wurden anschließend in Li^+ -freien Normalmedien bei einem Hk von 1o % resuspendiert und 24 Stunden inkubiert.

Abb. 8 zeigt den zeitlichen Verlauf der intrazellulären Lithium-Konzentration der Erythrozyten der Patientin K. und des gesunden Spenders nach Vorbeladung in Gegenwart von 3 mM/l Lithium.

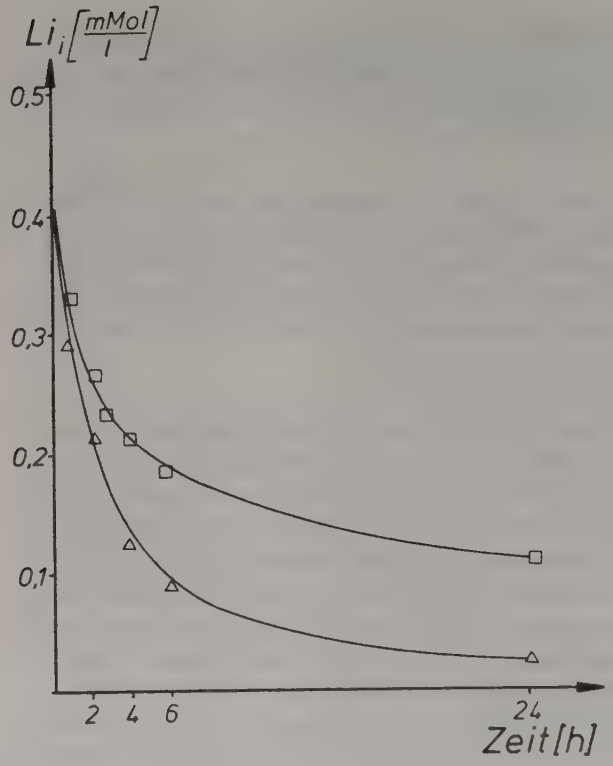

Abb. 8: Lithium-Abgabe aus Erythrozyten in Li^+ - freies Inkubationsmedium während 24 Stunden.
□ bei manisch-depressiver Patientin
△ bei gesunder Kontrollperson
(37 °C; pH 7,4; Hk 1o %; NaCl 13o mM; KCl 5 mM; $CaCl_2$ 1 mM; $MgCl_2$ 1 mM; Glucose 15 mM; Trispuffer 2o mM)
Einzelversuch

In beiden Fällen war die initiale Lithium-Konzentration in den Erythrozyten o,4 mM. Die Abbildung zeigt deutlich, daß die Erythrozyten der Patientin K. Lithium mit wesentlich langsamerer Geschwindigkeit in das Außenmedium transportierten als die Kontrollzellen. Die nach 24 Stunden gemessenen intrazellulären Lithium-Konzentrationen betrugen o,o21 bzw. o,1o8 mM, waren also in den Erythrozyten der Patientin K. um den Faktor 5 höher als in den Kontrollzellen. Entsprechende Befunde wurden auch erhalten, wenn die Erythrozyten niedrigere oder höhere initiale intrazelluläre Lithium-Konzentrationen aufwiesen.

In Abb. 9 sind die Geschwindigkeitsraten dargestellt, mit denen die Erythrozyten der beiden Spender bei verschieden hohen initialen intrazellulären Lithium-Konzentrationen Lithium in das Außenmedium transportierten: Unabhängig von der initialen intrazellulären Lithium-Konzentration wurden bei den Erythrozyten der Patientin K. deutlich geringere Lithium-Abgaberaten ermittelt als bei den Kontrollzellen. Diese Befunde deuten daraufhin, daß der Auswärtstransport von Lithium durch die Erythrozytenmembran erhebliche interindividuelle Differenzen aufweist.

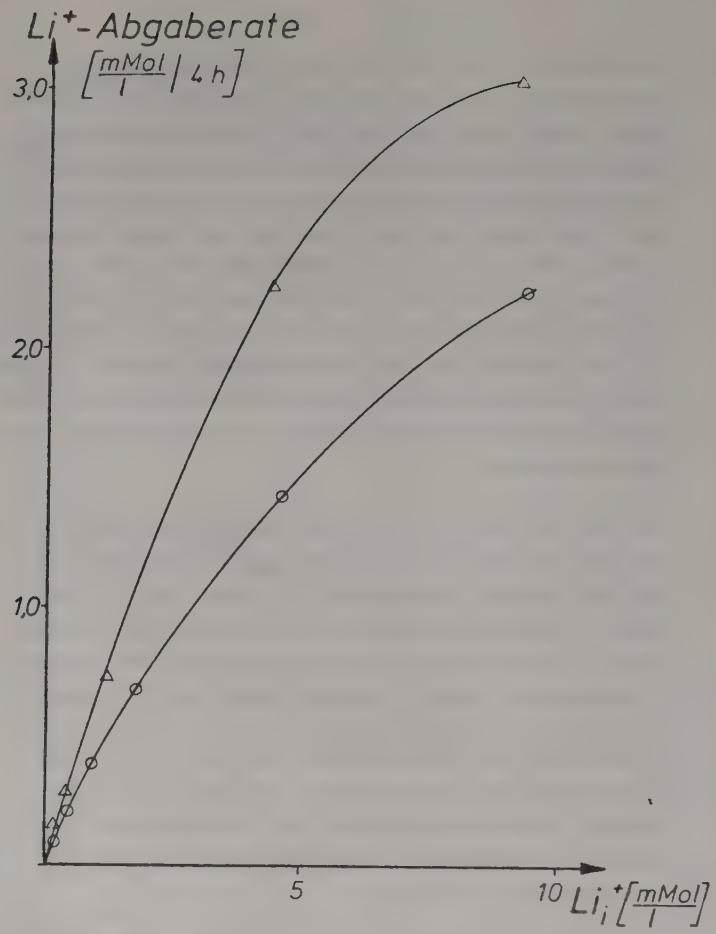

Abb. 9: Lithium-Abgaberaten aus Erythrozyten in Li^+ - freies Medium in Abhängigkeit von steigenden initialen intrazellulären Lithium-Konzentrationen

○ bei Patientin

△ bei gesunder Kontrollperson

(pH 7,4; 37 °C; Hk 1o %; NaCl 13o mM; KCl 5 mM; $CaCl_2$ 1 mM; $MgCl_2$ 1 mM; Glucose 15 mM; Trispuffer 2o mM)

Einzelversuch

3.2.4. Lithium-Abgabe in Li^+ -haltiges Inkubationsmedium bei Hk 1o %: Zusammenhang mit in vivo Verteilung von Lithium zwischen Erythrozyten und Plasma

Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Versuchen wurden die nun folgenden in Li^+ -haltigen Inkubationsmedien durchgeführt.

Dadurch war es möglich, bereits zu Versuchsbeginn ein bestimmtes intra-extrazelluläres Verhältnis Li_i^+/Li_e^+ experimentell vorzugeben und unter diesen Bedingungen den Lithium-Auswärtstransport zu untersuchen.

Die vorhergehenden Versuche zeigten, daß die Geschwindigkeit, mit der Lithium aus den Erythrozyten in das Medium transportiert wird, interindividuell variiert. Die folgenden Experimente sollten klären, ob diese Variationen einen Zusammenhang mit den in vivo unter Lithium-Therapie errichteten Quotienten Li_i^+/Li_e^+ aufweisen. Es wurden deshalb Erythrozyten von 2 Patienten verwendet, deren in vivo-Quotient Li_i^+/Li_e^+ aufgrund mehrmaliger Messungen während einer Lithium-Therapie bekannt war.

Eine Woche vor Beginn des Versuches wurde die Applikation von Lithium-Salzen unterbrochen, so daß die Erythrozyten weitgehend Li^+ -frei waren, also $Li_i^+ < 0{,}05$ mM/l. Die Erythrozyten dieser beiden Spender wurden in einem isotonen Medium, das 5o mM Li^+Cl enthielt, mit Lithium vorbeladen, ge-

waschen und anschließend zur Untersuchung des Transportverhaltens in Medien mit verschiedenen Lithium-Konzentrationen resuspendiert. Den zeitlichen Verlauf der intrazellulären Lithium-Konzentration von Lithium-vorbeladenen Erythrozyten während dieses Versuches zeigt Abb. 1o:

Wenn die initiale Lithium-Konzentration in den Erythrozyten und im Inkubationsmedium nahezu gleich war (Abb. 1o, untere Kurve) - Lithium also zu Versuchsbeginn annähernd passiv verteilt war - nahm die intrazelluläre Lithium-Konzentration während der Inkubation rasch und deutlich ab. Bei einem initialen Konzentrationsverhältnis Li_i^+/Li_e^+ von o,91 war die Netto-Auswärtsbewegung von Lithium von Versuchsbeginn an gegen einen elektrochemischen Gradienten gerichtet. Nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden wurde ein Quotient Li_i^+/Li_e^+ von o,2 gemessen. Betrug die extrazelluläre Lithium-Konzentration das 1,5- (Abb. 1o, mittlere Kurve) oder 3-fache (Abb. 1o, obere Kurve) der initialen intrazellulären Lithium-Konzentration, was einem initialen Quotienten Li_i^+/Li_e^+ von o,67 bzw. o,34 entspricht, konnte ebenfalls noch eine, wenn auch erheblich langsamere Auswärtsbewegung von Lithium beobachtet werden.

In beiden Fällen wurden nach 24 Stunden wiederum Quotienten Li_i^+/Li_e^+ von o,21 bzw. o,2o ermittelt. Der bei dem Patienten H.K. in vivo unter Lithium-Therapie festgestellte Quotient Li_i^+/Li_e^+ war o,23 und lag somit höher als der in vitro beobachtete.

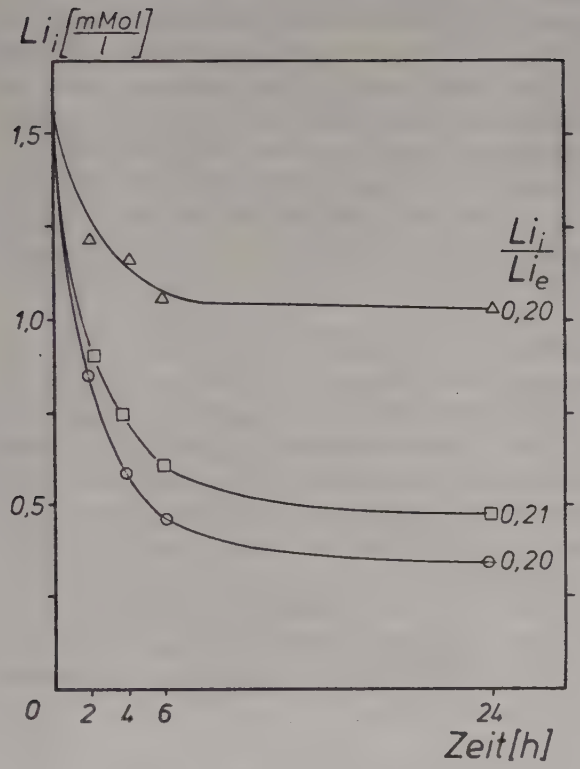

Abb. 1o: Lithium-Abgabe aus Erythrozyten in Li^+ - haltige Inkubationsmedien steigender Li^+_e-Konzentration.

(pH 7,4; 37 °C; Hk 1o %)

Einzelversuch; Patient H.K.

Unter den gleichen experimentellen Bedingungen wurde auch das Lithium-Transportverhalten von Erythrozyten des Patienten E.Z. untersucht. Bei diesem Patienten wurde unter Lithium-Therapie ein Quotient Li_i^+/Li_e^+ zwischen o,46 und o,52 gefunden. Wiederum wurden Lithium-vorbeladene Erythrozyten in Medien resuspendiert, die die gleiche, die 1,5- bzw. 3-fache initiale intrazelluläre Lithium-Konzentration aufwiesen. Der zeitliche Verlauf der intrazellulären Lithium-Konzentration ist in Abb. 11 dargestellt:

Nur wenn das Konzentrationsverhältnis Li_i^+/Li_e^+ zu Versuchsbeginn o,87 oder o,61 (Abb. 11, untere bzw. mittlere Kurve) war, konnte eine Netto-Auswärtsbewegung von Lithium festgestellt werden. Die in diesen beiden Fällen nach 24 Stunden gemessenen Quotienten Li_i^+/Li_e^+ waren o,43 bzw. o,44. Durch Erhöhung der extrazellulären Lithium-Konzentration auf das 3-fache der initial intrazellulären wurde damit bereits zu Versuchsbeginn ein Quotient Li_i^+/Li_e^+ von o,33 vorgegeben. In diesem Fall war kein Nettotransport von Lithium in das Außenmedium mehr festzustellen.

Es wurde sogar eine Aufnahme von Lithium in die Erythrozyten gemessen, wobei nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden ein Quotient Li_i^+/Li_e^+ von o,43 ermittelt wurde. Damit waren die in vitro nach 24 Stunden eingestellten Quotienten wiederum niedriger als die in vivo-Werte. Ein Vergleich der

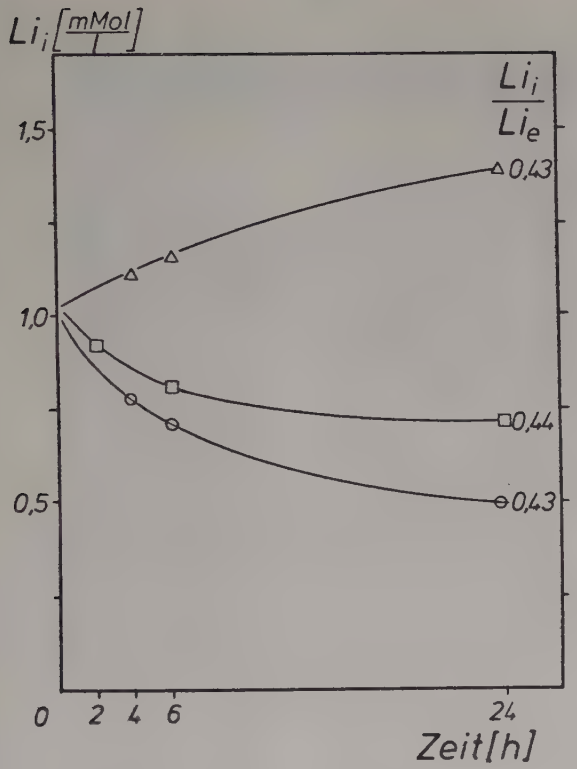

Abb. 11: Lithium-Abgabe aus Erythrozyten in Li^+ - haltige Inkubationsmedien steigender Li^+_e-Konzentration.

(pH 7,4; 37 °C; Hk 1o %)

Einzelversuch, Patient E.Z.

in vitro/in vivo-Quotienten beider Patienten zeigt, daß in beiden Fällen der in vitro-Wert niedriger lag, aber insgesamt dem in vivo-Quotient gut entsprach.

Die Geschwindigkeit, mit der die Erythrozyten der beiden Spender Lithium in das Außenmedium transportierten, ist deutlich verschieden: Bei einem initial intra-extrazellulären Lithium-Verhältnis von etwa 1 war nach 4 Stunden die intrazelluläre Lithium-Konzentration in den Erythrozyten des Patienten H.K. auf 39 %, im Falle des Patienten E.Z. dagegen nur auf 78 % des initialen Wertes gesunken. Die gleichen Unterschiede wurden beobachtet, wenn die initialen Konzentrationen im Medium auf das 1,5- bzw. 3-fache der intrazellulären Lithium-Konzentrationen erhöht wurden.

3.2.5. Lithium-Abgabe in Li^+ -haltige Inkubationsmedien variierenden Na^+ - und K^+ -Konzentrationen

Die in Abb. 4 und 5 dargestellten Befunde zeigen, daß die Aufnahme von Lithium in die Erythrozyten deutlich gesteigert wird, wenn man im Inkubationsmedium Natrium vollständig oder auch nur teilweise durch Kalium bzw. Cholinchlorid ersetzt. Um zu überprüfen, ob eine derartige Veränderung des Natrium-Gradienten auch die Lithium-Abgabe beeinflußt, wurden Lithium-vorbeladene Erythrozyten unter experimentellen Bedingungen untersucht, bei denen das gesamte extrazelluläre Natrium durch Kalium bzw. Cholinchlorid ersetzt wurde.

Wie aus der Abb. 12 zu ersehen ist, konnte unter diesen Versuchsbedingungen keine, gegen das elektrochemische Gleichgewicht gerichtete Lithium-Bewegung festgestellt werden. Bei einem initial vorgegebenen Quotienten Li_i^+/Li_e^+ von 0,73 ± 0,04 wurde nach einer Inkubationsdauer von 24 Stunden ein Quotient Li_i^+/Li_e^+ von 0,94 ± 0,05 gemessen, ein Wert also, der annähernd dem elektrochemischen Gleichgewicht entspricht. Die bei Ersatz des extrazellulären Natrium durch Kalium und Cholinchlorid erhaltenen Ergebnisse waren nahezu identisch. Deshalb sind in Abb. 12 nur die bei Ersatz des Natrium durch Kalium gefundenen Werte dargestellt.

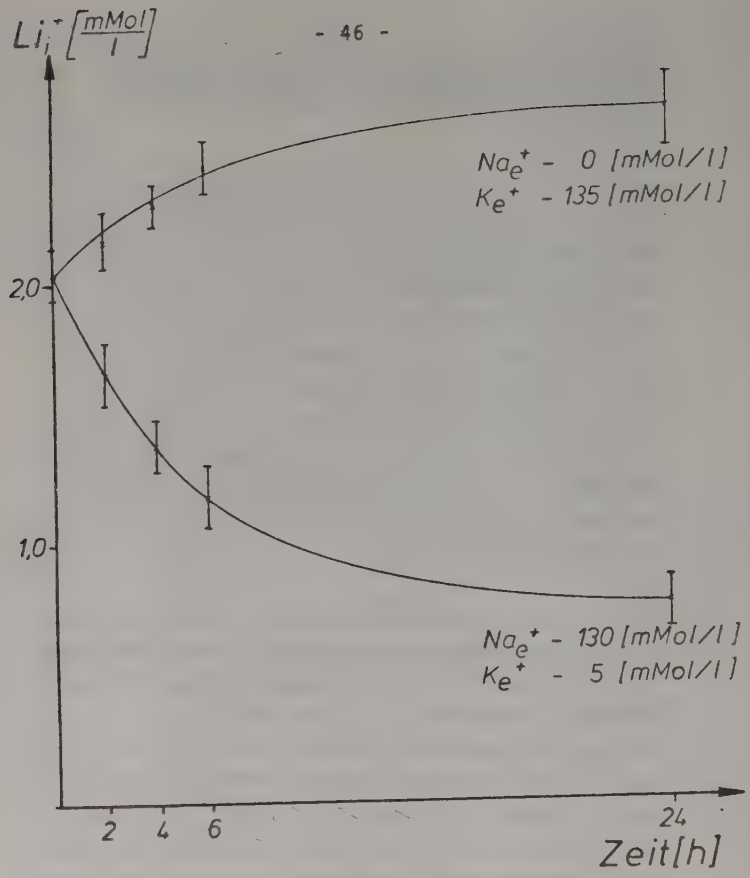

Abb. 12: Lithium-Abgabe aus Erythrozyten in Li^+-haltigen Medien. Vollständiger Natrium-Ersatz durch Kalium.

(pH 7,4; 37 °C; Hk 1o %; Li_e^+-Konzentration 2 mM/l)

Mittelwerte ± SD; n = 5

Bei der Kontrolluntersuchung mit Erythrozyten der gleichen Versuchspersonen bei einem physiologischen Natrium-Gradienten (Na_e^+ 13o mM, K_e^+ 5 mM) wurden nach 24 Stunden Quotienten Li_i^+/Li_e^+ um o,27 $\pm$ o,o3 ermittelt. Dies weist daraufhin, daß der gegen das elektrochemische Gleichgewicht gerichtete Transport von Lithium vom Bestehen eines Natrium-Gradienten abhängig sein könnte.

4. DISKUSSION

In der vorliegenden Studie wurden Erythrozyten als Modell gewählt, um den Mechanismus der unterschiedlichen Verteilung von Lithium zwischen dem intra- und extrazellulären Raum zu untersuchen. Studien an Ratten ergaben, daß die in den Erythrozyten gemessenen Lithium-Konzentrationen wesentlich besser mit den intrazellulären Konzentrationsverhältnissen im Gehirn übereinstimmten, als die im Plasma gemessenen (Frazer et al., 1973). Erythrozyten sind ohne Belastung für die Versuchspersonen zu gewinnen und leicht zu isolieren. Bezüglich ihrer Kationentransporteigenschaften sind sie den Nervenzellen qualitativ recht ähnlich (Hodgin und Keynes, 1954). So reagieren die Na^+-K^+ -abhängigen ATP-asen der Zellmembranen von Erythrozyten und Nervenzellen in ganz ähnlicher Weise auf Elektrolytveränderungen und Ouabainzugabe (Post et al., 196o; Skou, 1962). Dagegen ist die passive Permeabilität der Erythrozytenmembran wesentlich niedriger als die der Nervenzellmembran (Bonting S.L., Caravaggio L.L., 1963; Sjodin R.A., 1971; Parker J.C., Welt L.D., 1972). Israel et al., meinen aufgrund ihrer Untersuchungen, daß Membranveränderungen, die vorwiegend das menschliche Gehirn betreffen, auch an Membranen von Erythrozyten demonstriert werden können (Israel et al., 197o). Demnach können Erythrozyten in qualitativer Hinsicht als gutes Modell für Untersuchungen zur Verteilung und zum Transport von Elektrolyten über der Membran von Nervenzellen angesehen werden.

Eigenschaften der Zellmembran scheinen für die Verteilung von Lithium zwischen dem intra- und dem extrazellulären Kompartiment eine entscheidende Rolle zu spielen (Mendels und Frazer, 1974). Die bei manisch-depressiven Frauen im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen beobachteten signifikant höheren intrazellulären Lithium-Konzentrationen sollten ebenfalls auf Änderungen der Membranfunktion von Erythrozyten zurückzuführen sein (Lyttkens et al., 1973). In einer von Greil et al. durchgeführten in vitro-Studie wiesen 28 an affektiven Erkrankungen leidende Patienten ebenfalls höhere intra- extrazelluläre Quotienten Li_i^+/Li_e^+ auf als ein Kollektiv von 36 gesunden Spendern (o,32 $\pm$ o,12 resp. o,24 $\pm$ o,o7), (Greil et al., 1977). Auch die in der vorliegenden Untersuchung an 5 gesunden Spendern und 5 affektiv erkrankten Patienten erhaltenen Befunde weisen in diese Richtung, wobei allerdings das kleine Kollektiv der untersuchten Probanden nicht erlaubt, statistisch relevante Schlüsse zu ziehen (Tab. 1). Auch scheint die Bestimmung des intra- extrazellulären in vitro-Quotienten Li_i^+/Li_e^+ durch Lithium-Abgabe aus Lithium-vorbeladenen Zellen in Lithium- haltige Medien, wie auch in der vorliegenden Arbeit beschrieben, Resultate zu erbringen, die wesentlich besser mit den in vivo beobachteten Quotienten übereinstimmen, als die nach einer 24-stündigen Lithium-Aufnahme erhaltenen Werte (Greil et al., 1976).

Die in den Abb. 2 und 3 dargestellten Befunde zeigen eine deutliche Abhängigkeit der Lithium-Aufnahme in die Erythrozyten von der extrazellulären

Kalium-Konzentration. Auffällig ist vor allem die bei einer Erhöhung der Kalium-Konzentration von <o,5 mM auf 1o mM festgestellte Verminderung der Lithium-Aufnahme um 45 %. Da hierbei die Natrium-Konzentration nur von 135 mM auf 125 mM reduziert wird, scheint dieser hemmende Effekt auf die Lithium-Aufnahme im wesentlichen auf die Erhöhung der Kalium-Konzentration zurückzuführen zu sein. Eine Erhöhung der Kalium-Konzentration über 25 mM hinaus bewirkte keine zusätzliche Hemmung der Lithium-Aufnahme mehr. Aufbauend auf die in dieser Arbeit dargestellten Befunde wurden in unserer Arbeitsgruppe weiterführende Untersuchungen durchgeführt, durch welche der Mechanismus geklärt werden konnte, der diesem Lithium-Aufnahmeweg zugrundeliegt (Greil et al., 1976; Duhm et al., 1977; Eisenried, 1978). Die Natrium-Kalium-Pumpe ist imstande, Lithium an der Außenseite der Zellmembran anstelle von Kalium am Kalium-Bindungsort zu binden und im Austausch gegen Natrium in den Intrazellulärraum zu transportieren. Dieser Transport ist energieabhängig und durch Zugabe von Ouabain, einem spezifischen Hemmstoff dieses Transportsystems, zu blockieren (Duhm et al., 1977). Wir fanden heraus, daß bei einer extrazellulären Kalium-Konzentration von 25 mM die Lithium-Aufnahme um ca. 5o % reduziert wird, was nahezu identisch ist mit den in der vorliegenden Untersuchung erhaltenen Werten, nämlich 47 % (s. Abb. 3, K_e^+ = 25 mM). Dunham und Senyk (1977)berichteten, daß dieses Transportsystem Lithium auch an seiner Na^+-Bindungsstelle - also intrazellulär - binden und aus den Erythrozyten in das Medium transportieren kann, unter der Voraussetzung, daß der Intrazellu-

lärraum frei von Natrium und Kalium ist. Da dies unter physiologischen Bedingungen nicht der Fall ist, spielt der Lithium-Auswärtstransport durch die Natrium-Kalium-Pumpe praktisch keine Rolle. Es wurde bereits früher gezeigt, daß Lithium die Aktivität der Natrium-Kalium-Pumpe beeinflussen kann (Glen A.J.M., 1972; Beaugê L.A., 1975; Campillo E.D., 1976). Eine den Erythrozyten des Menschen ähnliche Kalium- und Ouabain-empfindliche Lithium-Aufnahme wurde früher bereits für die Linse des Kaninchenauges (Kinsey V.E., Mc Lean J.W., 1974), den Skelettmuskel des Frosches (Beaugê L.A., Ortiz O., 1972) und das Diaphragma der Ratten (Haugaard E.S. et al., 1975) beschrieben.

Die in den Abb. 4 und 5 gezeigten Befunde zeigen eine beträchtliche Zunahme der Lithium-Aufnahme bei Verminderung der extrazellulären Natrium-Konzentration und gleichzeitiger isotoner Erhöhung der Kalium-Konzentration, ausgehend von physiologischen Konzentrationen beider Kationen. Berücksichtigt man jedoch, daß bereits Kalium-Konzentrationen von 25 mM die Kalium-empfindliche Lithium-Transportkomponente nahezu vollständig blockieren, dann wäre die erhöhte Akkumulation von Lithium in den Erythrozyten insbesondere auf die Erniedrigung der extrazellulären Natrium-Konzentration zurückzuführen. Die höchste intrazelluläre Lithium-Konzentration wurde bei einer extrazellulären Natrium- und Kalium-Konzentration von < o,5 mM bzw. 135 mM gemessen. Versuche mit Lithium-vorbeladenen Zellen (Abb. 12) zeigten überdies, daß bei derartigen Konzentrationsverhältnissen auch ein gegen den

elektrochemischen Gradienten gerichteter Lithium-Auswärtstransport nicht mehr stattfindet. Bei einer Natrium-Konzentration von 13o mM und einer Kalium-Konzentration von 5 mM dagegen stellte sich während einer Inkubationszeit von 24 Stunden ein Quotient Li_i^+/Li_e^+ von o,35 ein. Diese experimentellen Befunde könnten damit erklärt werden, daß ein gegen den elektrochemischen Gradienten gerichteter Lithium-Auswärtstransport an die Gegenwart eines Natrium-Gradienten gebunden ist.

Die im Vergleich mit einem reinen Natrium- bzw. Kalium-Medium stark erhöhte intrazelluläre Anreicherung von Lithium bei vollständigem Ersatz von Kalium und Natrium durch Cholinchlorid würde sich somit durch die Summation zweier Effekte erklären lassen:

1) den erhöhten Lithium-Einwärtstransport durch die Natrium-Kalium-Pumpe,
2) die verminderte Lithium-Auswärtsbewegung infolge des fehlenden Natrium-Gradienten (s. Abb. 5).

Von Haas et al. (1975) und unabhängig davon von Duhm et al. (1976) wurde ein Transportmechanismus beschrieben, der eine gute Interpretation der eben aufgeführten experimentellen Befunde erlaubt. Es handelt sich um ein Natrium-abhängiges Lithium-Gegentransportsystem, welches unempfindlich gegenüber Ouabain und nicht an die Gegenwart energiereicher Phosphate gebunden ist (Haas et al., 1975; Duhm et al., 1976). Dieses System besitzt eine hohe Affinität gegenüber Lithium ($K_m \approx$ 1,5 mM), eine

sehr niedrige Affinität gegenüber Na^+ ($K_m \approx 5o$ mM) und wird durch Phloretin vollständig gehemmt (Duhm und Becker, 1977). Dagegen beeinflussen weder K^+, Ca^{++} noch Mg^{++} die Aktivität dieses Systems (Duhm et al., 1976). Damit stimmen auch die Befunde der Tab. 2 überein, wonach eine Erhöhung der Ca^{++} - bzw. Mg^{++} -Konzentration bis auf 25 mM keine Änderung der Lithium-Akkumulation in den Erythrozyten bewirkt. Die bei Zugabe von NaF und Monojodacetat erhaltenen Ergebnisse (s. Abb. 1 und 7) wurden anfänglich im Sinne eines energieabhängigen Lithiumtransports interpretiert. Da inzwischen jedoch gesichert ist, daß dieses Transportsystem nicht der Gegenwart von ATP bedarf (Duhm et al., 1976), scheinen die durch diese Stoffwechselblocker bewirkten Effekte die Folge von unspezifischen Veränderungen der Permeabilität der Erythrozytenmembran zu sein.

Durch welches der bislang beschriebenen Transportsysteme der Erythrozytenmembran der Na^+ -abhängige Lithium-Gegentransport vermittelt wird, konnten auch mehrere Untersuchungen noch nicht vollständig klären. Einige Autoren vermuten, daß ein gegenüber Ouabain unempfindliches Na^+ -Na^+ -Austauschsystem mit dem Na^+ -Li^+ -Gegentransportsystem identisch ist (Duhm und Becker, 1977; Tosteson, 1977). Mehrere gemeinsame Eigenschaften dieser beiden Systeme, nämlich die niedrige Affinität gegen Natrium, gleiche Empfindlichkeit gegenüber bestimmten Inhibitoren und identische pH-Abhängigkeit unterstützen diese Hypothese. Ein Na^+ -Na^+ -Austauschsystem mit gleichen Eigenschaften wurde auch an Erythrozyten von Rindern nachgewiesen (Motais, 1973). Auch andere Gewebe, so Neuronen von Schnecken (Thomas et al.,

1975) und Skelettmuskelzellen des Frosches (Smith, 1974) transportieren Lithium gegen den elektrochemischen Gradienten in ein Na^+ -reiches Außenmedium. Das Natrium-abhängige Lithium-Gegentransportsystem scheint somit eine weit verbreiterte Eigenschaft vieler Typen von Zellmembranen zu sein.

Daß die während einer Lithium-Therapie beobachteten interindividuellen Unterschiede des Quotienten Li_i^+/Li_e^+ auch unter in vitro-Bedingungen auftreten, konnte durch die in den Abb. 8 und 9 dargestellten Versuche gezeigt werden. Erythrozyten eines affektiv erkrankten Patienten transportierten Lithium mit erheblich geringerer Geschwindigkeit in das Außenmedium als Erythrozyten eines gesunden Spenders. Quantitativ nahezu identische Unterschiede zwischen Patienten und gesunden Spendern wurden auch von anderen Autoren nachgewiesen (Greil et al., 1977; Mallinger et al., 1975). Ungeklärt ist jedoch weiterhin, ob dieses Phänomen von pathognomischer Bedeutung ist, oder einfach Ausdruck einer natürlichen Variationsbreite. Auch lassen die hier angewandten Versuchsbedingungen offen, welcher der bislang bekannten Lithium-Transportmechanismen letztlich für diese interindividuellen Unterschiede verantwortlich ist. Untersuchungen von Greil et al. (1977) konnten diese Fragestellung klären. Es konnte gezeigt werden, daß Erythrozyten von Spendern, bei denen in vivo ein hoher Quotient Li_i^+/Li_e^+ gemessen wurde, eine geringere Aktivität des Natrium-abhängigen Lithium-Gegentransportsystems aufweisen als Erythrozyten von Spendern mit niedrigen Quotienten Li_i^+/Li_e^+. Geringfügige Unterschiede in der Aktivität der Natrium-Kalium-Pumpe, in der Konzentration von Natrium in den Erythrozyten bzw. im Plasma scheinen die Verteilung von Lithium nicht zu beeinflussen.

Der in vivo beobachtete Quotient Li_i^+/Li_e^+ wurde von mehreren Autoren in Zusammenhang gebracht mit dem klinischen Erfolg und den Nebenwirkungen einer Lithium-Therapie (Mendels und Frazer, 1973; Elizur, 1973). Diskutiert wird auch, ob Änderungen membrangebundener Transportsysteme in einem ursächlichen Zusammenhang stehen mit dem Auftreten affektiver Erkrankungen (Hokim-Naeverson, 1974). Sollten diese Hypothesen zutreffen, so wäre der in den Abb. 1o und 11 dargestellte in vitro-Test der Lithium-Abgabe aus Erythrozyten in Lithium-haltige Medien ein brauchbares Hilfsmittel, um Erfolg und Nebenwirkungen einer Lithium-Therapie vorhersagen zu können, ein Verfahren, daß auch diagnostisch von Bedeutung sein könnte. Eine Korrelation von in vivo- und in vitro-Quotienten wurde auch von anderen Autoren beobachtet, doch konnte die hier gemessene gute Übereinstimmung beider Quotienten - die in vitro-Quotienten lagen durchweg etwas niedriger als die in vivo-Quotienten - nicht bestätigt werden: Bei Pandey et al. (1977) lagen die in vivo ermittelten Quotienten Li_i^+/Li_e^+ etwa doppelt so hoch wie die in vitro ermittelten. Bei Untersuchungen an eineiigen Zwillingen wurde festgestellt, daß der individuelle Quotient Li_i^+/Li_e^+ genetisch determiniert ist (Dorus et al., 1974; Dorus et al., 1975). Auch bei diesen Fragestellungen könnte sich das Verfahren der Lithium-Abgabeversuche in Lithium-haltige Inkubationsmedien als sehr hilfreich erweisen, da hiermit auf die bisher notwendige Behandlung der Probanden mit Lithium-Salzen verzichtet und somit ein größeres Kollektiv untersucht werden könnte. Gleicherweise könnte dieser in vitro-Test

auch beitragen zur Klärung der Frage, ob monopolare und bipolare Verlaufsformen der affektiven Psychose unterschiedliche Lithium-Verteilungen aufweisen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die während einer Lithium-Therapie zu beobachtende ungleiche Verteilung von Lithium zwischen Erythrozyten und Plasma war Gegenstand der vorliegenden Untersuchung. Zu Beginn dieser Arbeit waren Mechanismen des Lithium-Transportes an Erythrozytenmembranen oder auch beeinflussende Faktoren noch unbekannt. Die Untersuchungen erbrachten folgende Ergebnisse:

Lithium-Aufnahme

- Es wird ein in vitro-System beschrieben, mit dessen Hilfe sowohl Aufnahme als auch Abgabe von Lithium durch Erythrozytenmembranen gemessen werden kann.
- Die Aufnahme von Lithium in die Zellen wird durch steigende K^+-Konzentrationen zu max. 5o % gehemmt.
- Ein Vergleich der Aufnahme von Lithium an Erythrozyten affektiv erkrankter Patienten und gesunder Versuchspersonen ergab keine auffälligen Unterschiede.
- Ca^{++} und Mg^{++} in Konzentrationen bis zu 25 mM/l konnten die Aufnahme von Lithium nicht beeinflussen.
- Eine Verminderung der Na^+-Konzentration bis zu 1 mM/l im Außenmedium führt zu einer deutlichen Steigerung der Lithium-Aufnahme.

Lithium-Abgabe

- Li^+-vorbeladene Erythrozyten, in einem Li^+-freien Außenmedium inkubiert bei Hk von 45 %, bzw. in einem Li^+-haltigen Außenmedium inkubiert bei Hk von 1o %, errichten während einer 24-stündigen Inkubationszeit einen erheblichen elektrochemischen Gradienten für Lithium.

- Die Gegenwart der Stoffwechselblocker Natriumfluorid und Monojodacetat bewirkte sowohl bei der Aufnahme als auch bei der Abgabe von Lithium eine gleichmäßige Verteilung von Lithium zwischen dem intra- und dem extrazellulären Raum.
- Li^+-vorbeladene Erythrozyten eines affektiv erkrankten Patienten transportierten Lithium mit wesentlich geringerer Geschwindigkeit in ein Li^+-freies Außenmedium als die Erythrozyten eines gesunden Spenders.
- Bei Ersatz des extrazellulären Na^+ durch K^+ oder Cholinchlorid konnte kein elektrochemischer Gradient für Lithium mehr errichtet werden.

in vitro-Test

Mit dem beschriebenen in vitro-Test lassen sich Quotienten Li_i^+/Li_e^+ ermitteln, die gut mit den in vivo während einer Li^+-Therapie beobachteten Quotienten übereinstimmen. Auf die bisher notwendige längere Behandlung der Probanden mit Li^+ -Salzen zur Bestimmung der Li_i^+/Li_e^+ Quotienten kann damit verzichtet werden.

5. LITERATUR

1 Beaugé, L.A.; Campillo, E.D.: The ATP dependence of a ouabain-sensitive sodium efflux activated by external sodium, potassium and lithium in human red cells. Biochim. Biophys. Acta 433, 547-554 (1976)

2 Beaugé, L.A.: The interactions of lithium ions with the sodium-potassium pump in frog skeletal muscle. J. Physiol. (Lond.) 246, 397-420 (1975)

3 Beaugé, L.A.; Ortiz, O.: Further evidence for a potassium-like action of lithium ions on sodium efflux from frog skeletal muscle. J. Physiolog. (Lond.) 226, 675-697 (1972)

4 Berner, P.; E.Gabriel; B.Küfferle: Therpie und Rückfallverhütung bei schizoaffektiven Psychosen. In: G.Huber (Hrsg.): Therapie, Rehabilitation und Prävention schizophrener Erkrankungen, 3. Weissenauer Schizophrenie Symposium, Okt. 1975. F.K. Schattauer, Stuttgart 1976, S. 249

5 Bonting, S.L.; Caravaggio L.L.: Studies on sodium-potassium-activated adenosinetriphosphatase, V: correlation of enzyme activity with cation flux in six tissues. Arch Biochem. Biophys. 101, 37-46, 1963

6 Cade, J.F.: Lithium salts in the treatment of psychotic exitement. Med. J. Australia 36, 349 (1949)

7 Corcoran, A.C.; R.D. Taylor; I.H. Page: Lithium poisoning from the use of salt substitutes.J. Amer.Med. Ass. 139, 685 (1959)

8 Dorus, E.; Pandey, G.N.; Davis, J.M.: Genetic determination of lithium ion distribution. An in vitro and in vivo monozygotic-dizygotic twin study. Arch. gen. Psychiat. 32, 1097-1102 (1975)

9 Dorus, E.; Pandey, G.N.; Frazer, A.: Genetic determination of lithium ion distribution. I. An in vitro monozygotic-dizygotic twin study. Arch. gen. Psychiat. 31, 463-467 (1974)

10 Duhm, J.; Becker, B.F.: Studies on the lithium transport across the red cell membrane. II. Characterisation of the ouabain-sensitive and ouabain-insensitive lithium-transport. Effects of bicarbonate and dipyridamole. Pflügers Archiv 367:211 (1977)

11 Duhm, J.; Becker, B.F.: Studies on the lithium transport across the red cell membrane. IV. Inter-individual variations in the natrium-dependent lithium-countertransportsystem. Pflügers Arch. 370 211 (1977)

12 Duhm, J.; Eisenried, F.; Becker, B.F.; Greil, W.: Studies on the lithium transport across the red cell membrane. I. lithium uphill transport by the natrium dependent lithium-countertransportsystem. Pflügers Arch. 364:147 (1976)

13 Dunham, P.B.; Senyk, O.: Lithium-efflux through the Na^+/K^+-pump in human erythrocytes. Proc. Nat. Acacl. Sci. USA 74: 3099 (1977)

14 Eisenried, F.: Transport von Lithium durch die Erythrozytenmembran des Menschen. Diplomarbeit (1978)

15 Elizur, A.; Shopsin, B.; Gershon, S.; Ehlenberger, A.: Intra: Extrazellular lithium rations and clinical course in affective states. Clin. Pharmacol. Ther. 13, 947-952 (1972)

16 Franzer, A., Mendels, J.; Sekunda, S.K.; Chochrane, C.M.; Banchi, C.P.: The prediction of brain lithium concentration from plasma or erythrocyte measures. J. Psychiat. Res. 10, 1-7 (1973)

17 Garrod, A.V.: Gout and Rheumatic Gout. Walton and Maberly. London 1859

18 Glen, A.J.M.; Bradbury, M.W.B.; Wilson, J.: Stimulation of the sodium pump in the red blood cell by lithium and potassium. Nature 239, 399-401 (1972)

19 Greil, W.; Eisenried, F.; Becker, B.F.; Duhm, J.: Interindividual differences of the Na^+-dependent lithium-countertransportsystem and of the lithium-distribution ratio across the red cell membrane among lithium-treated patient. Psychopharm.col. 53:19 (1977)

20 Greil, W.; Eisenried, F.; Duhm, J.: Über die Verteilung von Lithium zwischen Erythrozyten und Plasma: in-vitro-Untersuchung zum Transport von Lithium an menschlichen Erythrozyten. Arzneim. Forsch. (Drug res.) 26, 1147-1149 (1976)

21 Greil, W.; Schnelle, K.; Seibold, S.: Intra/extrazelluläre Lithium-Verhältnis. Klinische und experimentelle Befunde an Thrombozyten und Erythrozyten. Arzneim. Forsch. (Drog.Res) 24, 1079-1084, 1974

22 Haas, M., Schooler, J.; Tosteson, D.C.: Coupling of lithium to sodium transport in human red cells. Nature 258:425 (1975)

23 Haugaard, E.S.; Frazer, A.; Mendels, J.; Haugaard, N.: Metabolic and electrolyte changes produces by lithium ions in the isolated rat diaphragm. Biochem. Pharmecol. 24, 1187-1191 (1975)

24 Hodgin, A.L. and Keynes, R.D. (1954): Movement of cations during recovery in nerve. Symp. Soc. Exptl. Biol. 8:423

25 Hokum-Naeverson, M.; Spiegel, D.A.; Lewis, W.C.: Deficiency of erythrocyte sodium pump activity in bipolar manic-depressive psychosis Life Sci. 15 1739-1748 (1974)

26 Israel, Y.; Kalant, H.; Mc Blanc, E. et al.: Changes in cation transport and (Na+K)-activated adenosine triphosphatase produced by chronic administration of ethanol. J. Pharmacol. Exp.Ther 174:330-336 (1970)

27 Johnson, F.N. (ed.): Lithium research and therapy. London - New York - San Francisco: Academic Press 1975

28 Kinsey, V.E.; McLean, I.W.: Studies on the crystalline lens. XXI. Bidirectional carrier-mediated transport of lithium. Invest. Ophthalmology 13, 784-794 (1974)

29 Lyttkens, L.; Jöderberg, U.; Wetterberg, L.: Increased lithium erythrocyte/plasma ratio in manic-depressive psychosis, Lancet 1:40, 1973

30 Mallinger, A.G.; Kupfer, D.J.; Poust, R.J.; Hanin, J.: In vitro- and in vivo-transport of lithium by human erythrocytes. Clin. Pharmacol. Ther. 18:467 (1975)

31 Mendels, J.; Frazer, A.: Intracellular lithium concentration and clinical response. Towards a membrane theory of depression. J. psychiat. Res. 10, 9-18 (1973)

32 Mendels, J.; Frazer, A.: Alterations in cell membrane activity in depression. Amer. J. Psychiat. 131, 1240-1246 (1974)

33 Mendels, J.; Frazer, A.; Secunda, S.K.: Intra-Erythrocyte sodium and potassium in manic-depressive Illness. Biol. Psychiat. 5, 165-171 (1972)

34 Motais, R.: Sodium movements in high-sodium beef red cells: Properties of a ouabain-insensitive exchange diffusion. J. Physiol. (Lond.) 233:395 (1973)

35 Pandey, G.N.; Ostrow, D.G.; Haas, M.; Dorus, E.; Casper, R.G.; Davis, J.M.; Tosteson, D.G.: Abnormal lithium and sodium transport in erythrocytes of a manic patient and some members of his family. Proc. Natl. Acad. Sci. 74:3607-3611 (1977)

36 Parker, J.C.; Welt, L.G.: Pathological alterations of cation movements in red blood cells. Arch. Intern Med. 129:320 332 (1972)

37 Peet, M.: Lithium in the acute treatment of mania. In: F.N. Johnson (Hrsg.): Lithium, research and therapy, Academie Press London - New York, San Francisco 1975, S. 25

38 Post, R.L.; Mervitt, C.R.; Kinsolving, C.R. and Allbright, C.D. (1960): Membrane ATP-ase as a participant in the active transport of sodium and potossium in human erythrocyte. J.Biol. Chem. 235: (1976)

39 Schou, M.: Die Lithiumprophylaxe bei manisch-depressiven Psychosen. Nervenarzt 42, 1-10 (1971)

40 Schou, M.: Heutiger Stand der Lithium-Rezidivprohphylaxe bei endogenen affektiven Erkrankungen. Nervenarzt, 45, 397 (1974)

41 Sjodin, R.A.: Ion transport across excitable cell membrans in Biophysis and Physiology of Excitable Membranes. Edited by Adelmann W.J. New York, Van Nostrand Reinhold Co, 1971, pp 96-124

42 Skou, J.C. (1962): Preparation from mammalian brain and kidney of the enzyme system involved in active transport of Na^+ and K^+. Biochem. Biophys. Acta 58:314

43 Smith, I.C.H.: Lithium, sodium and potassium fluxes in frog skeletal muscle. J. Physiol. (Lond.) 242, 99-101 (1974)

44 Thomas, R.C.; Simon, W.; Oehme, M.: Lithium accumulation by snail neurones measures by a new Li^+-sensitive microelectrode, Nature (Lond.) 258, 754-756 (1975)

45 Tosteson, D.C.: Lithium transport in human red cells. In Bolis, L.; Hoffmann, J.F.; Straub, R. (eds): "Drugs, Hormones and Membranes. International Conference on Biological Membranes" (rans-sar-Sierre (Switzerland), Juni 12-17, New York: Raven Press (1977)

DANKSAGUNG

Herrn Prof. Dr. N. Matussek danke ich für die Oberlassung des Dissertationsthemas und des Laborarbeitsplatzes.

Ich bedanke mich bei Herrn Dr. W. Greil und Herrn F. Eisenried für die Anleitung zu dieser Arbeit und für die beratende Unterstützung bei allen aufgetretenen Schwierigkeiten.

LEBENSLAUF

Am 31. Dezember 1949 wurde ich in Sattelpeinstein, Kreis Cham, geboren. Nach vierjährigem Besuch der Volksschule trat ich 1960 in den humanistischen Zweig des Gymnasiums über. Das Abitur legte ich 1969 am Robert Schumann-Gymnasium in Cham ab.

Von 1969 bis zum Staatsexamen 1976 studierte ich Medizin an der Ludwig Maximilians-Universität in München.

Während meiner Medizinalassistentenzeit war ich am Kreiskrankenhaus Cham in den Fächern Chirurgie und Innere Medizin tätig.
Am 7. März 1978 erhielt ich die Approbation als Arzt.
Bis August 1979 arbeitete ich als Assistenzarzt in den Fächern Chirurgie und Gynäkologie am Kreiskrankenhaus Cham.
Seit September 1979 stehe ich bei der Gesellschaft "Deutscher Entwicklungsdienst" in Vorbereitung für eine ärztliche Tätigkeit in Übersee.

DISSERTATIONSDRUCK
HÖPFNER GMBH
Pestalozzistr. 106 1 Berlin 12 3 12 88 85
3 13 40 45